

STEP

98/00268

09/355220 5

Eur päisches
PatentamtEur pean
Patent OfficeOffice eur péen
des brevets

REC'D 14 APR 1998

WIPO

PCT

Bescheinigung

Certificate

Attestation

Die angehefteten Unterla-
gen stimmen mit der
ursprünglich eingereichten
Fassung der auf dem näch-
sten Blatt bezeichneten
europäischen Patentanmel-
dung überein.

The attached documents
are exact copies of the
European patent application
described on the following
page, as originally filed.

Les documents fixés à
cette attestation sont
conformes à la version
initialement déposée de
la demande de brevet
européen spécifiée à la
page suivante.

Patentanmeldung Nr. Patent application No. Demande de brevet n°

97101143.2

PRIORITY DOCUMENT

Der Präsident des Europäischen Patentamts:
Im Auftrag

For the President of the European Patent Office

Le Président de l'Office européen des brevets
p.o.

J. Aitken

DEN HAAG, DEN
THE HAGUE,
LA HAYE, LE

02/04/98



Eur päisches
Patentamt

Eur pean
Patent Office

Office eur péen
des brevets

Blatt 2 der Bescheinigung
Sheet 2 of the certificate
Page 2 de l'attestation

Anmeldung Nr.:
Application no.: 97101143.2
Demande n°:

Anmeldetag:
Date of filing: 24/01/97
Date de dépôt:

Anmelder:
Applicant(s):
Demandeur(s):
SCHWEIZ. SERUM- & IMPFINSTITUT BERN
CH-3001 Bern
SWITZERLAND

Bezeichnung der Erfindung:
Title of the invention:
Titre de l'invention:
Neues Verfahren zur Isolierung von Polysacchariden

In Anspruch genommene Priorität(en) / Priority(ies) claimed / Priorité(s) revendiquée(s)

Staat:
State:
Pays:

Tag:
Date:
Date:

Aktenzeichen:
File no.
Numéro de dépôt:

Internationale Patentklassifikation:
International Patent classification:
Classification internationale des brevets:

/

Am Anmeldetag benannte Vertragsstaaten:
Contracting states designated at date of filing: AT/BE/CH/DE/DK/ES/FI/FR/GB/GR/IE/IT/LI/LU/MC/NL/PT/SE
Etats contractants désignés lors du dépôt:

Bemerkungen:
Remarks:
Remarques:

VOSSIUS & PARTNER

PATENTANWÄLTE

EUROPEAN PATENT ATTORNEYS

SIEBERTSTRASSE 4 · 81675 MÜNCHEN · PHONE: (089) 47 40 75
TELEX: 529 453 VOPAT D TELEFAX: (089) 4 70 60 53

u.Z.: A 1956 EP

24. Jan. 1997

Schweiz. Serum- & Impfinstitut
Bern Schweiz

Neues Verfahren zur Isolierung von Polysacchariden

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Isolierung von Polysacchariden, insbesondere zur Abtrennung von Endotoxinen von Kapsel-Polysacchariden gram-negativer Bakterien. Die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren isolierten Polysaccharide werden vorzugsweise zur Herstellung von Polysaccharidimpfstoffen verwendet. Die Erfindung betrifft ferner Impfstoffe, die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren isolierte Polysaccharide enthalten.

Für die Herstellung von Impfstoffen, insbesondere Polysaccharidimpfstoffen aus bakteriellen Polysacchariden ist die Entfernung von Endotoxinen ein kritischer und entscheidender Schritt im Verlaufe der Reinigung der Polysaccharide. Das im Stand der Technik am häufigsten verwendete Verfahren zur Abtrennung von Endotoxinen von bakteriellen Polysacchariden beruht auf einer Phenolextraktion, die gegebenenfalls mehrfach wiederholt werden muß, bis der Endotoxingehalt den von den Gesundheitsbehörden erhobenen Anforderungen entspricht. Dieses Verfahren ist aufwendig und zeitraubend. Darüber hinaus ist die Arbeit mit Phenol unangenehm und verursacht unerwünschten toxischen Abfall. Außerdem sind die mit diesem aus dem Stand der Technik bekannten Verfahren erzielbaren Ausbeuten an Polysacchariden häufig unbefriedigend. Andere Verfahren aus dem Stand der Technik zur Isolierung von bakteriellen Polysacchariden beruhen auf der Verwendung von Affinitätsäulen. Häufig sind diese für die Ge-

1 sundheit bedenklich (z.B. die Verwendung von Polymyxin B-
haltigem Säulenmaterial). Darüber hinaus haben viele Säulen-
materialien nur beschränkte Kapazitäten, was für die Gewin-
nung technisch verwertbarer Ausbeuten an Polysacchariden re-
5 lativ große und damit teure Säulen bedingt (vgl. z.B. US-A
5,045,456, US-A 5,039,610 und US-A 5,034,519).

Der Erfindung lag somit die Aufgabe zugrunde, ein verein-
facht, wirtschaftlich sinnvolles und für die Gesundheit
10 weniger belastendes Verfahren zur Isolierung von Polysaccha-
riden bereitzustellen. Die Lösung dieser Aufgabe wird durch
die in den Ansprüchen gekennzeichneten Ausführungsformen er-
reicht.

15 Die Erfindung betrifft somit ein Verfahren zur Isolierung
von Polysacchariden, wobei man folgende Schritte durchführt:

- (a) Mischen einer bakteriellen Polysaccharidfraktion mit
einer Detergenslösung;
- 20 (b) Alkoholzugabe zu einer Endkonzentration, die unter der
Konzentration liegt, bei der das Polysaccharid ausfällt;
- (c) Mischen der Lösung;
- (d) Filtrieren der Lösung;
- (e) Abtrennung des Polysaccharids von Detergens und Alkohol.

25 Bakterielle Polysaccharidfraktionen, die im erfindungsge-
mäßigen Verfahren eingesetzt werden können, sind durch im
Stand der Technik bekannte Verfahren herstellbar; vgl. z.B.
Gotschlich et al., J. Exp. Med. 129 (1969), 1349-1365 sowie
30 Schneerson et al., J. Exp. Med. 152 (1980) 361-376. Die Al-
koholkonzentration, bei der das Polysaccharid in Gegenwart
der Detergenslösung ausfällt, ist für den Fachmann auf kon-
ventionelle Weise bestimmbar. Beispielsweise kann diese Kon-
zentration durch einfache Testreihen ermittelt werden.

35 Das Umsetzen der Lösung erfolgt üblicherweise 1 Minuten bis
1 Stunde, kann aber auch mehrere Stunden erfolgen. Das er-

- 1 findungsgemäße Verfahren ist im Gegensatz zu den im Stand
der Technik bekannten Verfahren einfach, schnell, billig und
verursacht weniger toxischen Abfall. Darüber hinaus sind die
Ausbeuten an Polysaccharid deutlich höher. Das erfindungsge-
5 mäße Verfahren beruht auf einer selektiven Alkoholfällung in
Gegenwart von mindestens einem Detergens, welches nicht ko-
valente Interaktionen zwischen Polysacchariden, Lipopoly-
sacchariden und Proteinen aufhebt.
- 10 In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen
Verfahrens ist der zuzugebende Alkohol Ethanol.
- In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfin-
dungsgemäßen Verfahrens erfolgt die Abtrennung des Poly-
15 saccharids von Detergens und Alkohol durch Fällung des Poly-
saccharids durch weitere Alkoholzugabe.
Diese Ausführungsform des Verfahrens ist besonders vorteil-
haft, da die Polysaccharidfällung und damit die Abtrennung
von Detergentien und Alkohol durch einfache weitere Zugabe
20 des Alkohols erreicht werden kann. In einer anderen Ausfüh-
rungsform kann die Fällung des Polysaccharids auch durch
Zugabe eines Alkohols erreicht werden, der sich von dem un-
terscheidet, der in Schritt (b) verwendet wird.
- 25 Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung be-
trifft ein Verfahren, wobei die Polysaccharide aus gram-ne-
gativen Bakterien stammen. In einer besonders bevorzugten
Ausführungsform sind die gram-negativen Bakterien
der Gattung Haemophilus, Neisseria, Klebsiella oder Escheri-
30 chia und insbesondere der Art Haemophilus influenzae (Typ
b), Neisseria meningitidis, Klebsiella pneumoniae oder
Escherichia coli. Bei den hier in Rede stehenden Polysaccha-
riden handelt es sich um Kapsel-Polysaccharide.
- 35 Die Isolierung von Polysacchariden aus Bakterien dieser Gat-
tungen bzw. Arten ist deshalb besonders bevorzugt, da sich
diese Polysaccharide zur Impfung gegen folgende Krankheiten

1 eignen: Meningitis, Epiglottitis, Otitis media, Pneumonie,
Arthritis, Sepsis, nosokomiale Infektionen, Harnwegsinfek-
tionen und Gastroenteritis.

5 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfin-
dungsgemäßen Verfahrens ist das Detergens ein anionisches
Tensid. Besonders bevorzugt ist ein Verfahren, wobei das
anionische Tensid ein Alkylsulfat, beispielsweise Natriumdo-
decylsulfat (SDS) ist.

10 Der Vorteil des Einsatzes von SDS im erfindungsgemäßen Ver-
fahren liegt u.a. darin, daß SDS von einer Vielzahl von Her-
stellern bezogen werden kann und darüber einen günstigen
Verkaufspreis aufweist.

15 In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform des
erfindungsgemäßen Verfahrens ist die Tensidkonzentration in
der der Polysaccharidfraktion in dem oben genannten Schritt
(a) zugesetzten Lösung höchstens 20 % (Gew./Gew.). Wie be-
reits vorstehend erwähnt, ist das Tensid vorzugsweise ein
20 Alkylsulfat und beispielsweise SDS.

Erfindungsgemäß besonders bevorzugt ist ein Verfahren, wobei
die Tensidkonzentration in der Polysaccharidlösung, bei-
spielsweise die SDS-Konzentration, 0,1 % bis 4 % beträgt.

25 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfin-
dungsgemäßen Verfahrens wird der Alkohol in Schritt (b) zu
einer Endkonzentration zu der Lösung gegeben, die etwa 10 %
unter der Konzentration liegt, bei der das Polysaccharid
ausfällt.

30 Es hat sich durch empirische Testreihen herausgestellt, daß
die Zugabe des Alkohols im Schritt (b) zu dieser Endkonzen-
tration besonders vorteilhaft ist, weil der Verlust an Poly-
saccharid bei dieser Konzentration gering ist und Endotoxin
35 trotzdem effizient ausgefällt wird.

1 In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist die Ausgangskonzentration an Polysacchariden in der Polysaccharidfraktion größer als 10 mg/ml.

5 Während das erfindungsgemäße Verfahren auch mit geringeren Ausgangskonzentrationen an Polysacchariden in der Polysaccharidfraktion durchgeführt werden kann, sollte die vorstehend genannte Mindestkonzentration besonders aus wirtschaftlichen Gesichtspunkten im erfindungsgemäßen Verfahren
10 eingesetzt werden.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Verfahren, wobei die Filtration durch einen Polymerfilter erfolgt.

15 In einer anderen bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird für die Filtration ein Tiefenfilter eingesetzt.

Der Begriff "Tiefenfilter" bedeutet im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung einen Filter, der im Gegensatz zu
20 einem Membranfilter (2-dimensional) eine 3-dimensionale Struktur (Tiefe) besitzt. Dieser Aufbau hat zur Folge, daß ein Tiefenfilter eine hohe Partikelrückhaltekapazität besitzt und entsprechend nicht so schnell verstopft.

25 Der Einsatz von Polymer- bzw. Tiefenfiltern hat sich erfindungsgemäß besonders bewährt. Dabei ist zu berücksichtigen, daß ein Polymerfilter auch Tiefenfilter und umgekehrt ein Tiefenfilter auch ein Polymerfilter sein kann, daß diese Bedingung jedoch nicht zwingend ist.

30 Die Isolierung der Polysaccharide nach dem erfindungsgemäßen Verfahren stellt sich als besonders effizient dar, wenn zur Filtration Tiefenfilter eingesetzt werden.

35 In einer besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist der Polymerfilter und/oder der Tiefenfilter ein Polypropylenfilter.

1 Die Erfindung betrifft ferner einen Polysaccharidimpfstoff,
der dadurch gekennzeichnet ist, daß er ein Polysaccharid
enthält, das nach dem erfindungsgemäßen Verfahren isoliert
wurde. Gegebenenfalls enthält dieser Polysaccharidimpfstoff
5 ferner einen pharmazeutisch verträglichen Träger.

Der erfindungsgemäße Polysaccharidimpfstoff ist wie den vor-
stehenden Ausführungen entnommen werden kann, besonders ein-
fach und billig herstellbar. Seine Herstellung ist darüber
hinaus für das Laborpersonal aus gesundheitlicher Sicht be-
10 sonders unbedenklich.

Der erfindungsgemäße Polysaccharidimpfstoff eignet sich ins-
besondere zur Impfung gegen Meningitis, Epiglottitis, Otitis
media, Pneumonie, Arthritis, Sepsis, nosokomiale Infektio-
nen, Harnwegsinfektionen oder Gastroenteritis. Darüber hin-
15 aus kann der erfindungsgemäße Polysaccharidimpfstoff jedoch
auch für die Impfung gegen andere Krankheiten eingesetzt
werden, die durch Kapselpolysaccharide tragende gram-nega-
tive Bakterien verursacht werden.

20 Außerdem betrifft die Erfindung ein Konjugat, das aus einem
nach dem erfindungsgemäßen Verfahren isolierten Polysaccha-
rid und einem chemisch damit verknüpften pharmazeutisch ver-
träglichen Protein besteht.

25 Darüber hinaus betrifft die Erfindung einen Konjugatimpf-
stoff, der ein nach dem erfindungsgemäßen Verfahren isolier-
tes Polysaccharid und chemisch damit verknüpft ein pharma-
zeutisch verträgliches Protein enthält.

30 Der erfindungsgemäße Konjugatimpfstoff wird bevorzugt für
die Immunisierung bzw. Prophylaxe gegen die vorgenannten
Krankheiten eingesetzt.

35 Insbesondere bevorzugt ist dabei, daß die Immunisierung bei
Kleinkindern durchgeführt wird.

1 Die Erfindung betrifft des weiteren einen Kombinationsimpfstoff, der ein nach dem erfindungsgemäßen Verfahren isoliertes Polysaccharid oder ein erfindungsgemäßes Konjugat sowie
5 eine weitere immunogene Komponente enthält, wobei die zusätzliche immunogene Komponente vorzugsweise eine Immunantwort gegen ein Pathogen induziert, das ein anderes Pathogen als das ist, aus dem das Polysaccharid stammt.

10 Vorzugsweise ist die weitere immunogene Komponente ein Diphtherie-, Tetanus-, Pertussis-, Hepatitis B- oder Polio-myelitis-Antigen.

15 Schließlich betrifft die Erfindung die Verwendung eines Polysaccharids, das nach dem erfindungsgemäßen Verfahren isoliert wurde, als Zwischenprodukt für die Herstellung eines Konjugat- oder Kombinationsimpfstoffes. Das Zwischenprodukt wird dabei mit einem pharmazeutisch verträglichen Protein chemisch zum Konjugat verknüpft. Dementsprechend betrifft
20 die Erfindung vorzugsweise eine Verwendung, wobei der Konjugat- oder Kombinationsimpfstoff als Wirkkomponente ein Konjugat enthält, das aus einem nach dem erfindungsgemäßen Verfahren isolierten Polysaccharid und einem chemisch damit verknüpften pharmazeutisch verträglichen Protein besteht.

25 Die Beispiele erläutern die Erfindung.

Beispiel 1

30 Isolierung eines Haemophilus influenzae Typ b Kapsel-Polysaccharids

35 Eine nach konventionellen Verfahren aufgearbeitete Kapsel-Polysaccharidfraktion (PRP, Polyribosylribitolphosphat) aus Haemophilus influenzae Typ b wird in einer Konzentration von > 10 mg/ml mit einer 4%-igen SDS-Lösung gemischt. Daraufhin wird Ethanol zu einer Endkonzentration zugegeben, die etwa 10 % unter der Konzentration liegt, bei der das Polysaccha-

1 rid auszufallen beginnt. Die Lösung wird etwa 20 Minuten
lang gemischt, wobei auch Zeiträume von 1 Minute bis mehrere
Stunden geeignet erscheinen, worauf sich eine leichte
Trübung einstellt. Anschließend wird durch einen Polypropy-
5 len-Tiefenfilter filtriert. Die Endotoxine werden durch die-
sen Filtrationsschritt abgetrennt und verbleiben im Filter.
Vermutlich sind sowohl Filtrations- als auch Adsorptionsef-
fekte für die Abtrennung der Endotoxine verantwortlich. Das
filtrierte Polysaccharid wird anschließend durch weitere
10 Ethanolzugabe gefällt, wobei das SDS in Lösung verbleibt.
Das gefällte Polysaccharid kann durch weitere Ethanolfällun-
gen von bleibenden SDS-Verunreinigungen abgetrennt werden.
Eine weitere Aufarbeitung des Polysaccharides sowie die Kon-
fektionierung als Impfstoff, wobei das Polysaccharid vor-
15 zugsweise chemisch mit einem geeigneten Trägerprotein ver-
knüpft wird, erfolgt nach im Stand der Technik bekannten,
üblichen Verfahren. In der genannten bevorzugten Ausführ-
ungsform ist das Polysaccharid auch ein Zwischenprodukt für
einen Konjugatimpfstoff.

Beispiel 2

Isolierung von *Neisseria meningitidis* Typ (A) und (C) Kap- 25 sel-Polysacchariden

Neisseria meningitidis Typ (A) und (C) Kapsel-Polysaccharide
wurden den gleichen Verfahrensschritten, wie in Beispiel 1
beschrieben, unterworfen.

30 Die Ausbeuten an mit den in den Beispielen 1 und 2 beschrie-
benen Verfahren erhaltenen Polysacchariden sind in Tabellen
I und II dargestellt. Es zeigt sich, daß die Ausbeute an
Haemophilus influenzae Typ (b) Kapsel-Polysaccharid, die mit
dem erfindungsgemäßen Verfahren erhältlich ist, wesentlich
35 höher ist als Polysaccharid, das mit im Stand der Technik
bekannten Verfahren (Phenolextraktion) erhalten werden kann.

Tabelle I

Isolierung von H. influenza Typ b Kapselpolysaccharid (PRP)

PRP-Chargen- nummer ¹	Verfahren	PRP-Menge (g)	Endotoxin		PRP-Ausbeute (%)
			vorher	nachher	
			(EU/μg/PRP)		
27	5 x Phenol	8,3	475	26	67
627095	EtOH/SDS	1,9	72,5	0,11	>95
611496	EtOH/SDS	75	55	<0,05	>95

¹ Bei den Chargennummern handelt es sich um interne Nummern des Anmelders, CH-Serum. Die Chargen wurden nach üblichen Verfahren hergestellt.

Tabelle II

Isolierung von N. meningitidis Gruppe C Kapselpolysaccharid (GCMP)

GCMP-Chargen- nummer ¹	Verfahren	GCMP-Menge (g)	Endotoxin		GCMP-Ausbeute (%)
			vorher	nachher	
			(EU/μg/GCMP)		
150396	EtOH/SDS	7,3	46,8	7,7	92
905096	EtOH/SDS	7,5	258	1,1	77
906096	EtOH/SDS	7,8	85	0,1	67

P a t e n t a n s p r ü c h e

1

1. Verfahren zur Isolierung von Polysacchariden, wobei man folgende Schritte durchführt:

5

(a) Mischen einer bakteriellen Polysaccharidfraktion mit einer Detergenslösung;

(b) Alkoholzugabe zu einer Endkonzentration, die unter der Konzentration liegt, bei der das Polysaccharid ausfällt;

10

(c) Mischen der Lösung;

(d) Filtrieren der Lösung;

(e) Abtrennung des Polysaccharids von Detergens und Alkohol.

15

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Alkohol Ethanol ist.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Abtrennung des Polysaccharids durch Fällung des Polysaccharids durch weitere Alkoholzugabe erfolgt.

20

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Polysaccharide aus gram-negativen Bakterien stammen.

25

5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die gram-negativen Bakterien Bakterien der Gattung Haemophilus, Neisseria, Klebsiella oder Escherichia und insbesondere der Art Haemophilus influenzae (Typ b), Klebsiella pneumoniae, Neisseria meningitidis oder Escherichia coli sind.

30

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei das Detergens ein anionisches Tensid ist.

35

7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei das anionische Tensid ein Alkylsulfat, beispielsweise Natriumdodecylsulfat (SDS) ist.

- 1 8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, wobei die Tensidkonzentration in der der Polysaccharidfraktion in Schritt (a) zugesetzten Lösung höchstens 20 % (Gew./Gew.) beträgt.
- 5 9. Verfahren nach Anspruch 8, wobei die Tensidkonzentration in der Polysaccharidlösung 0,1 % bis 4 % beträgt.
- 10 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei der Alkohol in Schritt (b) zu einer Endkonzentration zu der Lösung gegeben wird, die etwa 10 % unter der Konzentration liegt, bei der das Polysaccharid ausfällt.
- 15 11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei die Ausgangskonzentration an Polysacchariden in der Polysaccharidfraktion größer als 10 mg/ml ist.
- 20 12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11, wobei die Filtration durch einen Polymerfilter erfolgt.
- 25 13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei die Filtration durch einen Tiefenfilter erfolgt.
- 30 14. Verfahren nach Anspruch 12 oder 13, wobei der Polymerfilter und/oder der Tiefenfilter ein Polypropylenfilter ist.
- 35 15. Polysaccharidimpfstoff, dadurch gekennzeichnet, daß er ein Polysaccharid enthält, das nach dem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14 isoliert wurde, sowie gegebenenfalls einen pharmazeutisch verträglichen Träger.
16. Polysaccharidimpfstoff nach Anspruch 15 zur Prophylaxe gegen Meningitis, Epiglottitis, Otitis media; Pneumonie, Arthritis, Sepsis, nosokomiale Infektionen, Harnwegsinfektionen oder Gastroenteritis.

- 1 17. Konjugat, dadurch gekennzeichnet, daß es aus einem Polysaccharid besteht, das nach dem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14 isoliert wurde, sowie einem chemisch damit verknüpften pharmazeutisch verträglichen Protein.
- 5 18. Konjugatimpfstoff, dadurch gekennzeichnet, daß er ein Polysaccharid enthält, das nach dem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14 isoliert wurde, sowie ein chemisch damit verknüpftes pharmazeutisch verträgliches Protein.
- 10 19. Kombinationsimpfstoff, dadurch gekennzeichnet, daß er ein Polysaccharid, das nach dem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14 isoliert wurde oder ein Konjugat nach Anspruch 17, sowie mindestens eine weitere immunogene Komponente enthält.
- 15 20. Kombinationsimpfstoff nach Anspruch 19, wobei die weitere immunogene Komponente ein Diphtherie-, Tetanus-, Pertussis-, Hepatitis B- oder Poliomyelitis-Antigen ist.
- 20 21. Verwendung eines Polysaccharids, das nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14 isoliert wurde, als Zwischenprodukt für die Herstellung eines Konjugat- oder Kombinationsimpfstoffes.
- 25 22. Verwendung nach Anspruch 20, wobei der Konjugat- oder Kombinationsimpfstoff als Wirkkomponente ein Konjugat enthält, das aus einem Polysaccharid, das nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14 isoliert wurde und einem chemisch damit verknüpften pharmazeutisch verträglichen Protein besteht.
- 30

1

Zusammenfassung

5

Neues Verfahren zur Isolierung von Polysacchariden

10

15

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Isolierung von Polysacchariden, insbesondere zur Abtrennung von Endotoxinen von Kapsel-Polysacchariden gram-negativer Bakterien. Die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren isolierten Polysaccharide werden vorzugsweise zur Herstellung von Polysaccharidimpfstoffen verwendet. Die Erfindung betrifft ferner Impfstoffe, die mit dem erfindungsgemäßen Verfahren isolierte Polysaccharide enthalten.

20

25

30

35

